



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ : A61K 31/205	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/51596 (43) Date de publication internationale: 8 septembre 2000 (08.09.00)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/BE00/00021 (22) Date de dépôt international: 1er mars 2000 (01.03.00) (30) Données relatives à la priorité: 9900144 2 mars 1999 (02.03.99) BE (71)(72) Déposant et inventeur: MESSADEK, Jallal [BE/BE]; 2, place des Béguinages, B-4000 Liège (BE).	(81) Etats désignés: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> 103	
(54) Title: ANTITHROMBOTIC USE OF GLYCINE BETAINE (54) Titre: LA GLYCINE BÉTAÏNE POUR SON USAGE ANTITHROMBOTIQUE (57) Abstract <p>The invention concerns the use of glycine betaine to eliminate physiopathological vascular diseases. The invention concerns the curative and preventive activity of glycine betaine in the pathogenesis of thromboembolic and hemostatic diseases of arterial or venous origin. Glycine betaine has a preventing activity by inhibiting the formation of thrombi and a curative activity inhibiting the proliferation of thrombi by eliminating them. The invention is characterised in that glycine betaine does not present any risk of haemorrhage or allergy contrarily to molecules and treatments currently used. The invention also concerns the use of glycine betaine as anticoagulant for blood preservation.</p> <p>(57) Abrégé <p>L'invention consiste en l'utilisation de la glycine bétaine pour éliminer les atteintes physiopathologiques vasculaires. L'invention se rapporte à l'activité curative et préventive de la glycine bétaine dans la pathogénie des maladies thrombo-emboliques et hémostatiques d'origine artérielle ou veineuse. La glycine bétaine a une activité préventive en empêchant la formation des thrombi et une activité curative empêchant la prolifération des thrombi en les détruisant. L'intérêt de l'invention réside dans le fait que l'utilisation de la glycine bétaine ne présente aucun risque hémorragique ou allergique par opposition aux molécules et traitements actuellement utilisés. L'invention consiste également en l'utilisation de la glycine bétaine comme anti-coagulant pour la conservation du sang.</p></p>		

82.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce		de Macédoine	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	ML	Mali	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MN	Mongolie	UA	Ukraine
BR	B Brésil	IL	Israël	MR	Mauritanie	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MW	Malawi	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	MX	Mexique	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Pays-Bas	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NO	Norvège	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	NZ	Nouvelle-Zélande		
CM	Caméroun	KR	République de Corée	PL	Pologne		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	PT	Portugal		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RO	Roumanie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	RU	Fédération de Russie		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SD	Soudan		
DK	Danemark	LR	Libéria	SE	Suède		
EE	Estonie			SG	Singapour		

LA GLYCINE BÉTAÏNE POUR SON USAGE ANTITHROMBOTIQUE.

5

10 L'invention consiste en l'utilisation de la glycine bêtaïne pour éliminer les atteintes physiopathologiques vasculaires. L'invention se rapporte à l'activité curative et préventive de la glycine bêtaïne dans la pathogénie des maladies thrombo-emboliques et hémostatiques d'origine artérielles ou veineuses.

15 La glycine bêtaïne a une activité préventive en empêchant la formation des thrombi et une activité curative empêchant la prolifération des thrombi en les détruisant. L'intérêt de l'invention réside dans le fait que l'utilisation de la glycine bêtaïne ne présente aucun risque hémorragique ou allergique par opposition aux molécules et traitements actuellement utilisés.

20

ETAT DE LA TECHNIQUE

Les thromboses vasculaires sont une réponse de l'organisme face à l'agression de la paroi du vaisseau et de son contenu cellulaire et plasmatique. La thrombose est l'activation
25 localisée de la coagulation avec constitution d'un thrombus.

L'intérêt suscité par cette pathologie ces dernières années a permis d'incriminer plusieurs facteurs :

- Le vaisseau , la paroi vasculaire et les cellules endothéliales
- 30 - Le rôle des éléments figurés du sang
- Les systèmes de coagulation, de fibrinolyse, et leurs inhibiteurs.

Il existe plusieurs types de thromboses qui peuvent survenir au niveau des artères, des veines, de la microcirculation des organes, des cavités du cœur et des surfaces artificielles en
35 contact avec le sang. Les thromboses vasculaires sont une réponse de l'organisme à l'agression de la paroi du vaisseau et de son contenu cellulaire et plasmatique. La thrombose est une masse organisée d'éléments sanguins (plaquettes, globules rouges et globules blancs), de fibrine et d'autres protéines plasmatiques, qui est déposée à la surface ou qui obstrue la lumière du système vasculaire. Les mécanismes de la thrombose ressemblent à ceux de l'hémostase, mais
40 sont pathologiques par leur localisation intravasculaire anormale. Les thromboses et les embolies sont la cause principale des complications cliniques des maladies cardio-vasculaires et de l'athérosclérose.

D'après Virchow, au moins trois types de facteurs thrombogènes déterminent la
45 localisation, l'extension et la régression d'une thrombose :

- Les facteurs hémodynamiques et rhéologiques;
- La lésion endothéliale;

COPIE DE CONFIRMATION

- 2 -

- L'activation des constituants du sang, en particulier des plaquettes et de la coagulation qui aboutit à la formation de thrombine.

La maladie thrombo-embolique, d'origine artérielle ou veineuse reste une des causes principales de décès dans les pays développés.

La thrombose artérielle est souvent due à une rupture de la plaque d'athérosclérose alors que la thrombose veineuse résulte du déficit d'un inhibiteur de la coagulation (AT III) ou d'un déficit d'un activateur de la fibrinolyse (protéine S et/ou protéine C) ou plus fréquemment d'une stase. En effet, si tous les deux résultent d'une interaction entre le sang et la paroi vasculaire, la formation d'une thrombose veineuse et/ou par une anomalie de l'hémostase. La thrombose artérielle est le plus souvent secondaire à une anomalie pariétale et implique principalement les plaquettes sanguines. Elle contribue à une large variété de tableaux cliniques selon les lits artériels intéressés par l'interruption de la vascularisation. La thrombose peut atteindre principalement les artères cardiaques (coronaires), les artères des membres inférieurs, cérébrales ou digestives. Ainsi, la maladie artérielle favorise la formation du thrombus lui même responsable de la majorité des occlusions vasculaires terminales. De plus la participation du désordre de l'hémostase et du thrombus formé à d'autres lésions vasculaires est manifeste : aggravation des lésions de la paroi, ischémie et troubles de la microcirculation.

On peut distinguer trois stratégies thérapeutiques dans la prévention des accidents liés aux thromboses.

Les anticoagulants. Ils constituent l'élément majeur de la prise en charge d'un patient présentant une affection thrombo-embolique. L'héparine et ses dérivés sont couramment utilisés. Cependant, l'utilisation des héparines peut engendrer deux complications majeures, l'hémorragie ou la thrombopénie.

Les anti-vitamines K (AVK). Prescrites pour des traitements au long cours, elles ne peuvent être utilisées dans l'urgence et ne peuvent être prescrites simultanément avec d'autres anti-agrégants dont elles potentialisent l'effet hémorragique.

Les anti-agrégants plaquettaires. Prescrits pour prévenir la thrombose artérielle liée à l'athérosclérose. Actuellement les principaux inhibiteurs du fonctionnement plaquettaire prescrits sont : l'aspirine, la ticlopidine, le dipyridamole, et certains anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le flurbiprofène et la prostacycline. Ces traitements possèdent une réelle efficacité toute en présentant des effets indésirables sur les patients à terrains allergiques ou hémorragiques.

Tous ces traitements malgré leur efficacité nécessitent des précautions particulières dans leurs utilisations, telles que l'administration d'antidotes, les problèmes de surdosages et les effets secondaires non désirables. Ces traitements impliquent un suivi nécessaire des patients, dû notamment aux problèmes hémorragiques qui peuvent survenir pendant ou après la médication ainsi qu'aux éventuelles incompatibilités avec d'autres médicaments. Il était donc intéressant de trouver une molécule à haut potentiel antithrombotique sans effets indésirables. De manière tout à fait surprenante la glycine bêtaïne est apparue comme possédant un haut potentiel thérapeutique dans le traitement des thromboses.

La glycine bêtaïne ou bêtaïne de formule $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{---CH}_2\text{---COOH}$ est une molécule connue pour ses propriétés osmoprotectrices ainsi que pour ses utilisations cosmétiques et pharmaceutiques. Diverses applications pharmaceutiques de la bêtaïne sont connues et en particulier l'utilisation de la bêtaïne pour le traitement de l'homocystéinurie cause de troubles cardio-vasculaires (L. & B. Wilken J. Inher. Metab. Dis. 1997). Ainsi les

- 3 -

patients souffrant d'homocystéinurie, une anomalie génétique, présentent de manière prématurée des troubles athérosclérotiques et thrombo-emboliques (SH. Mudd & al. The metabolic and molecular bases of inherited disease, 1995), ainsi que des maladies cardio-vasculaires (Mc Cully . Atherosclerosis Rev 11, 1983). L'homocystéinurie est une déficience héréditaire dont la forme homozygote est rare. On estime que la prévalence de la forme hétérozygote est de 1 pour 200 dans la population générale.

L'homocystéinurie est due à des taux élevés d'homocystéine dans le plasma des patients atteints. L'administration de la bétaine permet d'abaisser la concentration d'homocystéine dans le sang.

Dans la publication WO 95 / 157 50, L'auteur afin de prévenir les désordres vasculaires chez les patients homocystéinuriques propose l'usage dans ses ingrédients de la bétaine.

La publication WO 98 / 19690 s'intéresse également aux patients souffrant d'un taux d'homocystéine élevé dans le sang. L'usage de la bétaine entre autres ingrédients est destiné à réduire le taux d'homocystéine dans le sang, étant établi que l'homocystéine est un facteur positif de risque dans l'occurrence des maladies cardio-vasculaires, ainsi que dans la maladie d'Alzheimer.

La publication EPO 347 864 décrit l'usage de la bétaine parmi ses ingrédients afin de lutter contre l'augmentation dans le plasma humain des groupes sulfhydryls dûs à la cystéine ainsi qu'à l'homocystéine, et ainsi inhiber la formation des plaques d'athérosclérose.

Cette activité anti-athérosclérotique est connue et largement documentée. Ces publications s'intéressent à l'activité de la bétaine sur le métabolisme des lipides (Zapadnyuk & al. Biol. Med. 1987) ainsi que sur celui du cholestérol (Panteleimonova & al . Farmakol. Toksikol , Moscow 1983).

La publication WO 97 38685 décrit l'utilisation de la bétaine et de la taurine afin de traiter les complications résultant de l'ischémie dans certains organes. L'ischémie est un arrêt localisé de la circulation sanguine et ne représente qu'une des pathologies dues à la thrombose.

La publication EPO 781 554 décrit dans ses exemples l'expérimentation sur des coeurs énucléés, c'est à dire des coeurs extraits et isolés du système vasculaire. L'utilisation de la bétaine pour ses propriétés osmoprotectrices et antiradicalaires connues permet ici aux auteurs de revendiquer son rôle protecteur du muscle cardiaque.

D'autres formes de bétaines ont été proposées (WO 97 / 06795) sans égaler à ce jour l'activité et les performances de la glycine bétaine.

Aucune de ces publications ne dévoile l'activité de la glycine bétaine vis à vis de la thrombose veineuse et/ou artérielle, ni son activité anti-agrégante et anticoagulante.

La glycine bétaine dans le cadre de la présente invention peut être utilisée pour diverses applications cliniques telles que :

40

- Thromboses coronariennes et thromboses veineuses
- Infarctus, angine de poitrine, anévrisme, embolie pulmonaire, phlébite
- Les embolies cérébrales
- les chocs post-traumatiques d'origine chirurgicale ou non.
- La prévention des accidents de microcirculation dans les cas suivants : hémophilie, chimiothérapie, âge, contraception orale par les oestrogènes, obésité, tabagisme, prothèse.
- La prévention des risques liés à l'administration des produits de contraste ioniques et non ioniques.

45

MATERIELETMETHODE

5

A/ Principe de la thrombose induite par laser.

(Seiffge D. et al., 1989 ; Weichter W. et al., 1983)

10 Dans ce modèle, la lésion de la paroi vasculaire est induite par un faisceau laser. Ce faisceau entraîne une lésion limitée de l'endothélium vasculaire (seulement 1 à 2 cellules sont détruites). La mise a nu du sous-endothélium, surface thrombogène, amène l'adhésion des plaquettes par l'intermédiaire de la glycoprotéine Ib. Cette adhésion des plaquettes est suivie par leur activation. Elles forment des pseudopodes et sécrètent le contenu de leurs granules. Cette activation entraîne l'apparition de la glycoprotéine IIb-IIIa nécessaire à l'agrégation des

15 plaquettes entre elles. Cette lésion est induite au niveau de la microcirculation mésentérique du rat. Elle est immédiatement suivie par la formation d'un thrombus (quelques secondes). Ce thrombus qui grossit rapidement, sous l'effet du flux sanguin, embolise avant de se former à nouveau.

20 Dans ce dispositif l'évaluation de l'effet de la glycine bêtaïne a été menée conjointement à l'étude de deux molécules pharmacologiquement actives utilisées comme référence: l'acide acétylsalicylique et l'héparine (de bas poids moléculaire). L'évaluation a également porté sur l'activité de la glycine bêtaïne par rapport aux effets prothrombotiques induits par les produits de contraste.

25

B/ Thrombose induite par stase.

Une laparotomie est effectuée pour dégager la veine cave inférieure sur laquelle on pratique une ligature à To, à To + 2h injection sous cutanée de la glycine bêtaïne, à To + 6h

30 prélèvement du caillot.

C/ Protocole expérimental.

Pour ces études on a utilisé des rats Wistar mâles. Leur poids est compris entre 200 et

35 250 grammes. Après une période de stabulation de 8 jours, les rats sont soumis à un jeûne de 12 heures. Ils sont ensuite anesthésiés, la glycine bêtaïne est administrée par voie sous cutanée et le mésentère (laser) ou la veine cave (stase) sont dégagés aux fins des expérimentations.

40

45

- 5 -

EXEMPLES:

5

Exemple 1 : Evaluation du nombre d'embolies et de la durée d'embolisation après altération vasculaire par les tirs lasers

	Nombre d'embolies	Durée d'embolisation (minutes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	5.33 ± 0.58	2 ± 0
Glycine bétaine 5mg/kg	2 ± 0	1 ± 0
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	1 ± 1	$0,33 \pm 0,58$
Héparine 2 mg/kg	$2,67 \pm 0,58$	1 ± 0

10

La glycine bétaine réduit d'une façon significative le nombre d'embolies et le temps d'embolisation après altération vasculaire par des tirs lasers. Ces résultats démontrent sa puissante activité anti-thrombotique.

15

Exemple 2 : Evaluation du temps d'hémorragie provoquée

(E. Dejana. Bleeding time in rats . Thrombosis. Rech. 1982)

20

	THP (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	101.52 ± 5.7
Glycine bétaine 5mg/kg	95 ± 5
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	$276,67 \pm 20,82$
Héparine 2 mg/kg	$313,33 \pm 20$

Les résultats montrent que la glycine bétaine maintient le temps d'hémorragie provoquée dans les valeurs du témoin négatif. La glycine bétaine en plus de son activité anti-thrombotique n'engendre pas de risques hémorragiques comparativement aux témoins positifs.

25

- 6 -

Exemple 3: Evaluation de l'agrégation plaquettaire après altération vasculaire par les tirs lasers

5 (Cardinal & Flower. Pharmacol. Method. 1980)

	Amplitude (Ohms)	Vélocité (Ohms/min)
Témoin négatif NaCl 0.9%	13 ± 1	9 ± 1
Glycine bétaïne 5mg/kg	0.66 ± 1.15	1.66 ± 1.15
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	2,33 ± 2.08	2 ± 1
Héparine 2 mg/kg	4.33 ± 0.57	2.66 ± 0.50

Les résultats démontrent l'activité anti-agrégante de la glycine bétaïne.

10

**Exemple 4 : Evaluation de l'effet de la vis à vis des cellules sanguines
a/ Dénombrement des plaquettes**

	Nombre de plaquettes (10^9)
Témoin négatif NaCl 0.9%	788 ± 30.14
Glycine bétaïne 5mg/kg	804.67 ± 20.03
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	855.33 ± 63.17
Héparine 2 mg/kg	777.33 ± 6.43

15

b/ Dénombrement des globules blancs

	Nombre des globules blancs (10^9)
Témoin négatif NaCl 0.9%	5.03 ± 0.20
Glycine bétaïne 5mg/kg	4.43 ± 0.32
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	4.33 ± 1.00
Héparine 2 mg/kg	5.80 ± 0.10

- 7 -

c/ Dénombrement des globules rouges

5

	Nombre des globules rouges (10^{12})
Témoin négatif NaCl 0.9%	6.56 ± 0.15
Glycine bétaine 5mg/kg	6.19 ± 0.25
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	6.15 ± 0.31
Héparine 2 mg/kg	6.20 ± 0.20

Le dénombrement des éléments figurés du sang reste dans les valeurs du témoin négatif et démontre l'innocuité de la glycine bétaine

10

Exemple 5 : Bilan biologique

a/ Temps de Quick

	TQ (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	17 ± 1
Glycine bétaine 5mg/kg	16.9 ± 1.05
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	18.33 ± 2.08
Héparine 2 mg/kg	29.50 ± 0.52

15

b/ Temps de céphaline activée (TCA)

	TCA (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	20.5 ± 0.5
Glycine bétaine 5mg/kg	39.9 ± 1.05
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	27.26 ± 1.1
Héparine 2 mg/kg	39.46 ± 1.36

c/ Dosage du fibrinogène

5

	Fibrinogène (g/l)
Témoin négatif NaCl 0.9%	2.45 ± 0.19
Glycine bétaine 5mg/kg	1.7 ± 0.1
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	2.19 ± 0.33
Héparine 2 mg/kg	2.13 ± 0.25

d/ Dosage de l'alpha.2-Antiplasmine (α 2AP)

10

	α 2AP (%)
Témoin négatif NaCl 0.9%	30.16 ± 0.85
Glycine bétaine 5mg/kg	29.7 ± 0.68
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	29.36 ± 0.92
Héparine 2 mg/kg	29.4 ± 1.01

e/ Dosage de l'Antithrombine III (AT III)

15

	AT III (%)
Témoin négatif NaCl 0.9%	86 ± 3
Glycine bétaine 5mg/kg	89.5 ± 1.37
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	85.33 ± 3.51
Héparine 2 mg/kg	77.66 ± 1.52

Exemple 6: Evaluation de l'activité de la glycine bêtaïne en fonction du temps

5

Groupes expérimentaux : Le produit est testé à 5 mg/ kg
Thrombose induite par laser

10

Contrôle	NaCl 0,9%
Groupe I	Le produit est injecté 1 heure avant l'expérimentation
Groupe II	Le produit est injecté 2 heures avant l'expérimentation
Groupe III	Le produit est injecté 24 heures avant l'expérimentation
Groupe IV	Le produit est injecté 48 heures avant l'expérimentation

15

a) Effet du produit testé (5 mg/ml/kg) sur le Temps d'Hémorragie Provoquée.

Groupes	T.H.P (secondes)
NaCl 0.9 %	110 ± 21,2
I	105 ± 26,2
II	145 ± 15,52
III	115,5 ± 14,2
IV	120 ± 10,13

20

b) Effet du produit testé (5 mg/ml/kg) sur la thrombose artérielle induite par faisceau laser

Groupes	Nombre de tirs	Nombre d'emboles	durée d'embolisation (minutes)
NaCl 0,9 %	2,5 ± 0,84	5,7 ± 1,5	2,1 ± 0,69
I	3,49 ± 1,07	1,8 ± 1,44	0,51 ± 0,5
II	3,0 ± 1,5	1,4 ± 1,18	0,3 ± 0,23
III	2,50 ± 1,25	1,99 ± 0,4	1,00 ± 0,5
IV	2,7 ± 1,0	2,2 ± 0,69	1,5 ± 0,6

- 10 -

c) Effet du produit testé (5 mg/kg) sur l'agrégation plaquettaire induite ex vivo.

Groupes	Amplitude (Ohms)	Vélocité (Ohms / minutes)
NaCl 0,9 %	24,23 ± 0,5	14,4 ± 2,3
I	11,33 ± 3,08	8,2 ± 0,2
II	13,2 ± 3,5	9,3 ± 1,8
III	12,7 ± 4,1	8,7 ± 1,3
IV	13 ± 2,8	8,7 ± 1,15

5

d) Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne sur les facteurs de coagulation après administration répétitive sur 5 jours de traitement.

	TCA (secondes)	Temps de Quick (secondes)	Fibrinogène g / l
Témoin non traité	21,25 ± 2,3	16,1 ± 1,0	3,03 ± 0,45
Glycine bêtaïne (5 mg / kg / j)	39,3 ± 2,3	19,8 ± 1,2	2,2 ± 0,1

10

Exemple 7 : Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne sur la thrombose veineuse induite par stase.

a) Effet de la glycine bêtaïne sur le poids du caillot

15

	Poids du caillot (mg)
Témoin non traité	4,033 ± 2
Glycine bêtaïne (1mg/kg)	3,1 ± 0,4
Glycine bêtaïne (2,5 mg/kg)	1,63 ± 0,76
Glycine bêtaïne (5mg/kg)	0,76 ± 0,4

- 11 -

b) Evaluation de l'effet de la glycine bétaïne sur le plasminogène

	Plasminogène %
NaCl 0,9 %	$2,7 \pm 0,33$
Glycine bétaïne (5 mg / kg)	$1,66 \pm 0,58$
Glycine bétaïne (2,5 mg / kg)	$2 \pm 0,15$
Glycine bétaïne (1 mg / kg)	$2,44 \pm 0,58$

5 c) Evaluation de l'effet de la glycine bétaïne sur la coagulation

	TCA (secondes)	Temps de Quick (secondes)	Fibrinogène g / l
Témoin non traité	$30,2 \pm 2,7$	$16,1 \pm 1,0$	$3,03 \pm 0,45$
Glycine bétaïne (1 mg/kg)	$29,1 \pm 2,3$	$16,2 \pm 1,2$	$2,63 \pm 0,3$
Glycine bétaïne (2,5 mg/kg)	$31,2 \pm 2,6$	$16,6 \pm 0,7$	$2,2 \pm 0,17$
Glycine bétaïne (5 mg/kg)	$33,5 \pm 1,9$	$15,6 \pm 0,4$	$2,32 \pm 0,33$

d) Evaluation de l'effet de la glycine bétaïne sur les facteurs de coagulation

10

	Anti Xa unité / ml	Anti IIa unité / ml
Glycine bétaïne (5 mg / kg)	$0,35 \pm 0,15$	—
Glycine bétaïne (2,5 mg / kg)	$0,14 \pm 0,10$	—
Glycine bétaïne (1 mg / kg)	$0,08 \pm 0,1$	—

- 12 -

Le traitement avec la glycine bêtaïne inhibe les complications thrombo-emboliques déclenchées par les tirs lasers. En effet, ce traitement avec la glycine bêtaïne, avant les tirs lasers diminue l'adhésion des plaquettes et leur agrégation au niveau vasculaire.

- 5 Le traitement avec la glycine bêtaïne inhibe les complications thrombo-emboliques. En effet, ce traitement avec la glycine bêtaïne, avant l'induction de la thrombose, a montré un haut potentiel antithrombotique au niveau de tous les paramètres entrant en jeu dans le processus de la formation du thrombus. De plus, les résultats des paramètres biologiques démontrent la parfaite innocuité de la glycine bêtaïne qui contrairement aux produits de référence utilisés
10 (aspirine et héparine), n'induit aucun effet hémorragique ni d'effet secondaire indésirable. Ces caractéristiques confèrent à la glycine bêtaïne, en plus de son efficacité démontrée, la particularité de pouvoir être administrée aux personnes à risque hémorragique ainsi qu'aux personnes qui présenteraient des risques de sensibilité ou d'allergie face aux traitements antithrombotiques conventionnels (hémophiles, allergiques). La glycine bêtaïne ne provoquant
15 de thrombopénies ou désordres hémorragiques (exemples 2 & 4). Le résultat expérimental de l'exemple 5, c, démontre une consommation du fibrinogène.

- Il est à noter que, dans les mêmes conditions expérimentales, pour la conservation du sang la glycine bêtaïne est apparue comme possédant un haut pouvoir anti-coagulant
20 comparativement à des tubes héparinés ou contenant de l'E.D.T.A. Les doses actives de glycine bêtaïne sont apparues entre 3 et 5 mg par tube à hémolyse. Ce résultat expérimental démontre un haut potentiel anticoagulant de la glycine bêtaïne. L'utilisation de la glycine bêtaïne comme anticoagulant peut être revendiquée, tant pour le traitement du corps humain in vivo, que pour la conservation du sang ex vivo.

25

Evaluation de l'activité de la glycine bêtaïne vis à vis des produits de contraste.

- Dans le cadre de la recherche sur les effets anti-thrombotiques et dans le souci de compléter l'approche de l'efficacité de la glycine bêtaïne, nous avons évalué l'effet de la
30 glycine bêtaïne sur l'augmentation des risques thrombo-emboliques liés à l'utilisation des produits de contraste connus pour leurs pouvoirs prothrombotiques. L'intérêt représenté par l'utilisation de ce modèle est qu'il permet l'observation directe de la formation du thrombus au site de la lésion vasculaire. Ces résultats expliquent l'apparition d'occlusions thrombotiques lors des angioplasties, surtout chez des patients, dont l'endothélium est déjà endommagé ou
35 lésé. L'angioplastie coronaire cause une dénudation de l'endothélium, exposant le collagène, l'élastine et les cellules musculaires lisses au sang circulant, en analogie avec le modèle de thrombose expérimentale utilisé. Ainsi, l'apparition de nouveaux thrombi est plus élevée chez des patients présentant un infarctus du myocarde récent ou une plaque coronaire excentrique.

- L'administration des produits de contraste, diminue le nombre de globules blancs, le
40 nombre de globules rouges et le nombre de plaquettes. Les produits de contraste interagissent avec les leucocytes, induisent la libération de leukotriènes, augmentent la perméabilité vasculaire et exercent un effet chimiotactique. De plus, les produits de contraste agissent sur le contrôle de l'expression de la P-selectine et provoquent l'adhésion des globules blancs à l'endothélium vasculaire. Il a été démontré que l'utilisation des produits de contraste était
45 associée avec l'apparition de thrombi d'importance variable en fonction du produit utilisé.

Deux produits de contrastes ont été étudiés : Hexabrix® (ionique) et Iopamidol ® (non ionique)

- 13 -

Exemple 8 : Evaluation du nombre d'embolies et de la durée d'embolisation après altération vasculaire par les tirs lasers et administration des produits de contrastes.

	Nombre d'embolies	Durée d'embolisation (minutes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	5.33 ± 0.58	2 ± 0
Hexabrix®	8 ± 1	3.67 ± 0.58
Iopamidol®	11.67 ± 0.50	6.33 ± 0.52
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	4 ± 1	2 ± 0
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	5.33 ± 0.58	2.33 ± 0.48

5

Exemple 9 : Evaluation du temps d'hémorragie provoquée (THP)

	THP (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	101.52 ± 5.7
Hexabrix®	195 ± 13.23
Iopamidol®	128 ± 7.64
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	150 ± 5
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	111 ± 6.60

10 **Exemple 10: Evaluation de l'agrégation plaquettaire après altération vasculaire par les tirs lasers**

	Amplitude (Ohms)	Velocité (Ohms/min)
Témoin négatif NaCl 0.9%	13 ± 1	9 ± 1
Hexabrix®	6 ± 1	5.66 ± 0.57
Iopamidol®	15 ± 2.64	12.33 ± 0.50
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	2 ± 1	5 ± 0
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	4.66 ± 0.52	9.33 ± 0.8

- 14 -

Exemple 11 : Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne vis à vis des cellules sanguines**a/ Dénombrement des plaquettes**

5

	Nombre plaquettes (10^9)
Témoin négatif NaCl 0.9%	788.33 \pm 30.14
Hexabrix®	620 \pm 10
Iopamidol®	585.67 \pm 23.54
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	669.67 \pm 7.37
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	704.33 \pm 92.33

b/ Dénombrement des globules blancs

	Nombre globules blancs (10^{12})
Témoin négatif NaCl 0.9%	5.03 \pm 0.20
Hexabrix®	2.96 \pm 0.21
Iopamidol®	3.06 \pm 0.35
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	4.20 \pm 0.1
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	3.9 \pm 0.3

10

c/ Dénombrement des globules rouges

	Nombre globules rouges (10^9)
Témoin négatif NaCl 0.9%	6.56 \pm 0.15
Hexabrix®	5.43 \pm 0.47
Iopamidol®	5.5 \pm 0.36
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	6.5 \pm 0.15
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	6.6 \pm 0.19

Exemple 12 : Bilan biologique**a/ Temps de Quick**

5

	TQ (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	17 ± 1
Hexabrix®	24.13 ± 1
Iopamidol®	28.1 ± 0.75
Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®	16.36 ± 0.56
Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®	17.83 ± 1.2

b/ Temps de céphaline activé (TCA)

	TCA (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	20.5 ± 0.5
Hexabrix®	49.3 ± 1.85
Iopamidol®	41.33 ± 0.8
Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®	25.4 ± 0.61
Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®	22.4 ± 0.7

10

c/ Dosage du fibrinogène

	Fibrinogène (g/l)
Témoin négatif NaCl 0.9%	2.45 ± 0.19
Hexabrix®	1.49 ± 0.18
Iopamidol®	1.5 ± 0.8
Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®	1.7 ± 0.09
Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®	1.9 ± 0.1

d/ Dosage de l'alpha.2-Antiplasmine (α 2AP)

5

	α 2AP (%)
Témoin négatif NaCl 0.9%	30.16 ± 0.85
Hexabrix®	23.26 ± 1.06
Iopamidol®	25.23 ± 0.95
Glycine bétaine 5mg/kg + Hexabrix®	25.66 ± 0.64
Glycine bétaine 5mg/kg + Iopamidol®	28.13 ± 0.8

e/ Dosage de l'Antithrombine III (AT III)

10

	AT III (%)
Témoin négatif NaCl 0.9%	86.3 ± 3
Hexabrix®	81.63 ± 0.66
Iopamidol®	70.6 ± 1.51
Glycine bétaine 5mg/kg + Hexabrix®	79.1 ± 1.05
Glycine bétaine 5mg/kg + Iopamidol®	87.26 ± 0.9

15 Le traitement avec la glycine bétaine inhibe les complications thrombo-emboliques associées à l'utilisation des produits de contraste. En effet, ce traitement avec la glycine bétaine, avant ou pendant l'injection des produits de contraste, diminue l'adhésion des plaquettes et leur agrégation au niveau vasculaire. Ces résultats démontrent l'effet anti-thrombotique et thrombolytique de la glycine bétaine. Il est à noter que les produits de contraste peuvent avoir d'autres effets secondaires telle que la stase sanguine au niveau des cathéters et les lésions endothéliales causées par les procédures d'administrations elles-mêmes. La glycine bétaine remédie à ces effets indésirables.

20

25

5 CONCLUSION

La glycine bêtaïne possède les mêmes, voire de meilleures, caractéristiques thérapeutiques que les anticoagulants et les anti-agrégants étudiés (acide acétylsalicylique et l'héparine), tout en ne présentant aucun effet indésirable.

10

Les performances supérieures en terme d'efficacité thérapeutique de la glycine bêtaïne par rapport à ces deux molécules (acide acétylsalicylique et héparine) incitent à la formulation d'un médicament ayant pour principe thérapeutiquement actif la glycine bêtaïne. Ce médicament étant destiné au traitement des thromboses et des affections thrombo-emboliques.

15

Selon les résultats exposés ce médicament revendique aussi les indications anticoagulant, anti-agrégant et fibrinolytique. L'innocuité démontrée de cette molécule permet d'envisager des traitements à long terme sans pour autant nécessiter une surveillance biologique.

20

L'intérêt de l'utilisation de la glycine bêtaïne réside dans le fait qu'elle agit à plusieurs niveaux de l'hémostase à savoir au niveau de l'agrégation plaquettaire, au niveau de la coagulation et au niveau fibrinolytique. Cette activité est durable et évite des administrations répétitives ce qui constitue une amélioration notable par rapport aux traitements existant. L'administration de la bêtaïne n'induit aucun risque hémorragique, ni autres effets secondaires (ex : thrombopénie induite à l'héparine) ce qui constitue une avancée majeure en thérapeutique antithrombotique.

25

REVENDECATIONS

5

1. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les thromboses non induites par l'homocystéinurie.

2. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les affections thrombo-emboliques non induites par l'homocystéinurie.

10 3. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les désordres de la coagulation du sang chez un patient.

4. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les désordres de l'agrégation plaquettaire chez un patient.

5 5. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à lyser
15 un thrombus.

6. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les thromboses chez les sujets à risque hémorragique.

7. Utilisation de la glycine bêtaïne comme agent anticoagulant pour la conservation du sang ex-vivo.

20 8. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à contrecarrer les effets thrombo-emboliques induits par les produits de contraste.

9. Utilisation de la glycine bêtaïne selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle puisse être simultanément administrée avec des produits de contraste à un patient.

10. Utilisation de la glycine bêtaïne comme principe actif selon l'une quelconque des
25 revendications 1 à 9, caractérisée en ce qu'une quantité efficace de glycine bêtaïne est associée à un support, véhicule ou excipient pharmaceutiquement acceptable.

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/BE 00/00021

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/205

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 97 06795 A (KALVINSH IVARS ;VEVERIS MARIS (LV)) 27 February 1997 (1997-02-27) abstract page 5, last paragraph	1-4,7,10
Y	EP 0 781 554 A (TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD ;VALSTS ZINATNISKA IESTADE BEZP (LV)) 2 July 1997 (1997-07-02) abstract page 2, line 56 -page 3, line 13 page 4, line 13 - line 34; claims	1-4,7,10
A	WO 98 19690 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO) 14 May 1998 (1998-05-14) page 1, line 1 -page 2, line 26 page 5, line 7 - line 20 page 6, line 16 - line 19; claims 16-19 -/--	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 June 2000

Date of mailing of the international search report

19/06/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hoff, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Appl. No.
PCT/BE 00/00021

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 95 15750 A (HASHIM SAMI A) 15 June 1995 (1995-06-15) the whole document ---	1-10
A	WO 97 38685 A (HAEUSSINGER DIETER) 23 October 1997 (1997-10-23) abstract page 4, line 30 -page 8, line 6 page 12, line 27 -page 14, line 5; claims 1,8,9,11-13,15,18 ---	1-10
A	EP 0 347 864 A (STRYDOM ANDRIES JOHANNES CORNE) 27 December 1989 (1989-12-27) le document en entier, plus particulièrement page 3, ligne 10 and revendication 7 ---	1-10
A	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US ZAPADNYUK, V. I. ET AL: "Bile-secretory effect of trimethylglycine in normal and atherosclerotic animals of different ages" retrieved from STN Database accession no. 107:190742 HCA XP002123170 abstract & BYULL. EKSP. BIOL. MED. (1987), 104(7), 30-2, ---	1-10
A	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US PANTELEIMONOVA, T. N. ET AL: "Effect of trimethylglycine on lipid metabolism in rabbits with experimental atherosclerosis" retrieved from STN Database accession no. 99:99080 HCA XP002123171 abstract & FARMAKOL. TOKSIKOL. (MOSCOW) (1983), 46(4), 83-5, ---	1-10
A	FAZIO B ET AL: "Treatment of human atherosclerosis with betaine." MINERVA MED, (1961 APR 25) 52 1511-6., XP000853747 the whole document ---	1-10
A	P.H. LIST ET AL.: "HAGERS HANDBUCH DER PHARMAZEUTISCHEN PRAXIS" 1972, SPRINGER-VERLAG, BERLIN. HEIDELBERG. NEW YORK XP002123167 page 431 ---	1-10
-/-		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter .nal Application No

PCT/BE 00/00021

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	"Betaine for homocystinuria." MEDICAL LETTER ON DRUGS AND THERAPEUTICS, (1997) 39/993 (12)., XP000853853 the whole document	1-10
A	--- WILCKEN D E ET AL: "The natural history of vascular disease in homocystinuria and the effects of treatment." JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASE, (1997 JUN) 20 (2) 295-300., XP000853897 the whole document	1-10
A	--- J.E.F. REYNOLDS: "MARTINDALE, The Extra Pharmacopoeia" 1996 , ROYAL PHARMACEUTICAL SOCIETY , LONDON XP002123168 "Betaine hydrochloride" page 1679	1-10
A	--- "the merck index" 1996 , MERCK & CO , WHITEHOUSE STATION, NJ XP002123169 "Betaine" page 198 -----	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/BE 00/00021

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9706795 A	27-02-1997	LV 11727 A LV 11727 B	20-04-1997 20-08-1997
EP 0781554 A	02-07-1997	JP 10095731 A US 5965615 A WO 9704767 A	14-04-1998 12-10-1999 13-02-1997
WO 9819690 A	14-05-1998	AU 719290 B AU 5244298 A EP 0951293 A US 6008221 A	04-05-2000 29-05-1998 27-10-1999 28-12-1999
WO 9515750 A	15-06-1995	AU 1265295 A	27-06-1995
WO 9738685 A	23-10-1997	AU 2386097 A CA 2251071 A EP 0946167 A NO 984759 A US 5880098 A	07-11-1997 23-10-1997 06-10-1999 12-10-1998 09-03-1999
EP 0347864 A	27-12-1989	AU 2999192 A AU 3673789 A DK 313989 A JP 2067216 A MC 2041 A NO 892617 A NZ 229670 A ZA 8904797 A	04-02-1993 04-01-1990 25-12-1989 07-03-1990 30-05-1990 27-12-1989 28-07-1992 28-03-1990

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. Internationale No
PCT/BE 00/00021

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K31/205

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 97 06795 A (KALVINSH IVARS ;VEVERIS MARIS (LV)) 27 février 1997 (1997-02-27) abrégé page 5, dernier alinéa ---	1-4,7,10
Y	EP 0 781 554 A (TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD ;VALSTS ZINATNISKIA IESTADE BEZP (LV)) 2 juillet 1997 (1997-07-02) abrégé page 2, ligne 56 -page 3, ligne 13 page 4, ligne 13 - ligne 34; revendications --- -/--	1-4,7,10

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

9 juin 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

19/06/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Hoff, P

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem Internationale No
PCT/BE 00/00021

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 98 19690 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO) 14 mai 1998 (1998-05-14) page 1, ligne 1 -page 2, ligne 26 page 5, ligne 7 - ligne 20 page 6, ligne 16 - ligne 19; revendications 16-19 ---	1-10
A	WO 95 15750 A (HASHIM SAMI A) 15 juin 1995 (1995-06-15) le document en entier ---	1-10
A	WO 97 38685 A (HAEUSSINGER DIETER) 23 octobre 1997 (1997-10-23) abrégé page 4, ligne 30 -page 8, ligne 6 page 12, ligne 27 -page 14, ligne 5; revendications 1,8,9,11-13,15,18 ---	1-10
A	EP 0 347 864 A (STRYDOM ANDRIES JOHANNES CORNE) 27 décembre 1989 (1989-12-27) le document en entier, plus particulièrement page 3, ligne 10 and revendication 7 ---	1-10
A	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US ZAPADNYUK, V. I. ET AL: "Bile-secretory effect of trimethylglycine in normal and atherosclerotic animals of different ages" retrieved from STN Database accession no. 107:190742 HCA XP002123170 abrégé & BYULL. EKSP. BIOL. MED. (1987), 104(7), 30-2, ---	1-10
A	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US PANTELEIMONOVA, T. N. ET AL: "Effect of trimethylglycine on lipid metabolism in rabbits with experimental atherosclerosis" retrieved from STN Database accession no. 99:99080 HCA XP002123171 abrégé & FARMAKOL. TOKSIKOL. (MOSCOW) (1983), 46(4), 83-5, ---	1-10
A	FAZIO B ET AL: "Treatment of human atherosclerosis with betaine." MINERVA MED, (1961 APR 25) 52 1511-6., XP000853747 le document en entier ---	1-10
	-/-	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dernière internationale No
PCT/BE 00/00021

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	P.H. LIST ET AL.: "HAGERS HANDBUCH DER PHARMAZEUTISCHEN PRAXIS" 1972, SPRINGER-VERLAG, BERLIN. HEIDELBERG. NEW YORK XP002123167 page 431 ---	1-10
A	"Betaine for homocystinuria." MEDICAL LETTER ON DRUGS AND THERAPEUTICS, (1997) 39/993 (12)., XP000853853 le document en entier ---	1-10
A	WILCKEN D E ET AL: "The natural history of vascular disease in homocystinuria and the effects of treatment." JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASE, (1997 JUN) 20 (2) 295-300., XP000853897 le document en entier ---	1-10
A	J.E.F. REYNOLDS: "MARTINDALE, The Extra Pharmacopoeia" 1996, ROYAL PHARMACEUTICAL SOCIETY, LONDON XP002123168 "Betaine hydrochloride" page 1679 ---	1-10
A	"the merck index" 1996, MERCK & CO, WHITEHOUSE STATION, NJ XP002123169 "Betaine" page 198 -----	1-10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Der. : Internationale No

PCT/BE 00/00021

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9706795 A	27-02-1997	LV 11727 A	20-04-1997
		LV 11727 B	20-08-1997
EP 0781554 A	02-07-1997	JP 10095731 A	14-04-1998
		US 5965615 A	12-10-1999
		WO 9704767 A	13-02-1997
WO 9819690 A	14-05-1998	AU 719290 B	04-05-2000
		AU 5244298 A	29-05-1998
		EP 0951293 A	27-10-1999
		US 6008221 A	28-12-1999
WO 9515750 A	15-06-1995	AU 1265295 A	27-06-1995
WO 9738685 A	23-10-1997	AU 2386097 A	07-11-1997
		CA 2251071 A	23-10-1997
		EP 0946167 A	06-10-1999
		NO 984759 A	12-10-1998
		US 5880098 A	09-03-1999
EP 0347864 A	27-12-1989	AU 2999192 A	04-02-1993
		AU 3673789 A	04-01-1990
		DK 313989 A	25-12-1989
		JP 2067216 A	07-03-1990
		MC 2041 A	30-05-1990
		NO 892617 A	27-12-1989
		NZ 229670 A	28-07-1992
		ZA 8904797 A	28-03-1990

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (juillet 1992)

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

VERSION CORRIGÉE

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
8 septembre 2000 (08.09.2000)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 00/51596 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 31/205

SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/BE00/00021

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(22) Date de dépôt international : 1 mars 2000 (01.03.2000)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

Publiée :
— avec rapport de recherche internationale

(30) Données relatives à la priorité :
9900144 2 mars 1999 (02.03.1999) BE

(48) Date de publication de la présente version corrigée:
11 octobre 2001

(71) Déposant et

(72) Inventeur : MESSADEK, Jallal [BE/BE]; 2, place des
Béguinages, B-4000 Liège (BE).

(15) Renseignements relatifs à la correction:
voir la Gazette du PCT n° 41/2001 du 11 octobre 2001,
Section II

(81) États désignés (national) : AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS,
JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU,

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: ANTITHROMBOTIC USE OF GLYCINE BETAINE

(54) Titre : LA GLYCINE BÉTAÏNE POUR SON USAGE ANTITHROMBOTIQUE

(57) Abstract: The invention concerns the use of glycine betaine to eliminate physiopathological vascular diseases. The invention concerns the curative and preventive activity of glycine betaine in the pathogenesis of thromboembolic and hemostatic diseases of arterial or venous origin. Glycine betaine has a preventing activity by inhibiting the formation of thrombi and a curative activity inhibiting the proliferation of thrombi by eliminating them. The invention is characterised in that glycine betaine does not present any risk of haemorrhage or allergy contrarily to molecules and treatments currently used. The invention also concerns the use of glycine betaine as anticoagulant for blood preservation.

(57) Abrégé : L'invention consiste en l'utilisation de la glycine bêtaïne pour éliminer les atteintes physiopathologiques vasculaires. L'invention se rapporte à l'activité curative et préventive de la glycine bêtaïne dans la pathogénie des maladies thrombo-emboliques et hémostatiques d'origine artérielle ou veineuse. La glycine bêtaïne a une activité préventive en empêchant la formation des thrombi et une activité curative empêchant la prolifération des thrombi en les détruisant. L'intérêt de l'invention réside dans le fait que l'utilisation de la glycine bêtaïne ne présente aucun risque hémorragique ou allergique par opposition aux molécules et traitements actuellement utilisés. L'invention consiste également en l'utilisation de la glycine bêtaïne comme anti-coagulant pour la conservation du sang.

WO 00/51596 A1

LA GLYCINE BÉTAÏNE POUR SON USAGE ANTITHROMBOTIQUE.

5

10 L'invention consiste en l'utilisation de la glycine bêtaïne pour éliminer les atteintes physiopathologiques vasculaires. L'invention se rapporte à l'activité curative et préventive de la glycine bêtaïne dans la pathogénie des maladies thrombo-emboliques et hémostasiques d'origine artérielles ou veineuses.

15 La glycine bêtaïne a une activité préventive en empêchant la formation des thrombi et une activité curative empêchant la prolifération des thrombi en les détruisant. L'intérêt de l'invention réside dans le fait que l'utilisation de la glycine bêtaïne ne présente aucun risque hémorragique ou allergique par opposition aux molécules et traitements actuellement utilisés.

20

ETAT DE LA TECHNIQUE

Les thromboses vasculaires sont une réponse de l'organisme face à l'agression de la paroi du vaisseau et de son contenu cellulaire et plasmatique. La thrombose est l'activation localisée de la coagulation avec constitution d'un thrombus.

L'intérêt suscité par cette pathologie ces dernières années a permis d'incriminer plusieurs facteurs :

- Le vaisseau, la paroi vasculaire et les cellules endothéliales
- 30 - Le rôle des éléments figurés du sang
- Les systèmes de coagulation, de fibrinolyse, et leurs inhibiteurs.

Il existe plusieurs types de thromboses qui peuvent survenir au niveau des artères, des veines, de la microcirculation des organes, des cavités du cœur et des surfaces artificielles en contact avec le sang. Les thromboses vasculaires sont une réponse de l'organisme à l'agression de la paroi du vaisseau et de son contenu cellulaire et plasmatique. La thrombose est une masse organisée d'éléments sanguins (plaquettes, globules rouges et globules blancs), de fibrine et d'autres protéines plasmatiques, qui est déposée à la surface ou qui obstrue la lumière du système vasculaire. Les mécanismes de la thrombose ressemblent à ceux de l'hémostase, mais

40 sont pathologiques par leur localisation intravasculaire anormale. Les thromboses et les embolies sont la cause principale des complications cliniques des maladies cardio-vasculaires et de l'athérosclérose.

D'après Virchow, au moins trois types de facteurs thrombogènes déterminent la localisation, l'extension et la régression d'une thrombose :

- Les facteurs hémodynamiques et rhéologiques;
- La lésion endothéliale;

COPIE DE CONFIRMATION

- 2 -

- L'activation des constituants du sang, en particulier des plaquettes et de la coagulation qui aboutit à la formation de thrombine.

La maladie thrombo-embolique, d'origine artérielle ou veineuse reste une des causes principales de décès dans les pays développés.

La thrombose artérielle est souvent due à une rupture de la plaque d'athérosclérose alors que la thrombose veineuse résulte du déficit d'un inhibiteur de la coagulation (AT III) ou d'un déficit d'un activateur de la fibrinolyse (protéine S et/ou protéine C) ou plus fréquemment d'une stase. En effet, si tous les deux résultent d'une interaction entre le sang et la paroi vasculaire, la formation d'une thrombose veineuse et/ou par une anomalie de l'hémostase. La thrombose artérielle est le plus souvent secondaire à une anomalie pariétale et implique principalement les plaquettes sanguines. Elle contribue à une large variété de tableaux cliniques selon les lits artériels intéressés par l'interruption de la vascularisation. La thrombose peut atteindre principalement les artères cardiaques (coronaires), les artères des membres inférieurs, cérébrales ou digestives. Ainsi, la maladie artérielle favorise la formation du thrombus lui-même responsable de la majorité des occlusions vasculaires terminales. De plus la participation du désordre de l'hémostase et du thrombus formé à d'autres lésions vasculaires est manifeste : aggravation des lésions de la paroi, ischémie et troubles de la microcirculation.

On peut distinguer trois stratégies thérapeutiques dans la prévention des accidents liés aux thromboses.

Les anticoagulants. Ils constituent l'élément majeur de la prise en charge d'un patient présentant une affection thrombo-embolique. L'héparine et ses dérivés sont couramment utilisés. Cependant, l'utilisation des héparines peut engendrer deux complications majeures, l'hémorragie ou la thrombopénie.

Les anti-vitamines K (AVK). Prescrites pour des traitements au long cours, elles ne peuvent être utilisées dans l'urgence et ne peuvent être prescrites simultanément avec d'autres anti-agrégants dont elles potentialisent l'effet hémorragique.

Les anti-agrégants plaquettaires. Prescrits pour prévenir la thrombose artérielle liée à l'athérosclérose. Actuellement les principaux inhibiteurs du fonctionnement plaquettaire prescrits sont : l'aspirine, la ticlopidine, le dipyridamole, et certains anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le flurbiprofène et la prostacycline. Ces traitements possèdent une réelle efficacité tout en présentant des effets indésirables sur les patients à terrains allergiques ou hémorragiques.

Tous ces traitements malgré leur efficacité nécessitent des précautions particulières dans leurs utilisations, telles que l'administration d'antidotes, les problèmes de surdosages et les effets secondaires non désirables. Ces traitements impliquent un suivi nécessaire des patients, dû notamment aux problèmes hémorragiques qui peuvent survenir pendant ou après la médication ainsi qu'aux éventuelles incompatibilités avec d'autres médicaments. Il était donc intéressant de trouver une molécule à haut potentiel antithrombotique sans effets indésirables. De manière tout à fait surprenante la glycine bêtaïne est apparue comme possédant un haut potentiel thérapeutique dans le traitement des thromboses.

La glycine bêtaïne ou bêtaïne de formule $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$ est une molécule connue pour ses propriétés osmoprotectrices ainsi que pour ses utilisations cosmétiques et pharmaceutiques. Diverses applications pharmaceutiques de la bêtaïne sont connues et en particulier l'utilisation de la bêtaïne pour le traitement de l'homocystinurie cause de troubles cardio-vasculaires (L. & B. Wilken J. Inher. Metab. Dis. 1997). Ainsi les

- 3 -

patients souffrant d'homocystinurie, une anomalie génétique, présentent de manière prématurée des troubles athérosclérosiques et thrombo-emboliques (SH. Mudd & al. The metabolic and molecular bases of inherited disease, 1995), ainsi que des maladies cardio-vasculaires (Mc Cully . Atherosclerosis Rev 11, 1983). L'homocystinurie est une déficience héréditaire dont la forme homozygote est rare. On estime que la prévalence de la forme

hétérozygote est de 1 pour 200 dans la population générale. L'homocystinurie est due à des taux élevés d'homocystéine dans le plasma des patients atteints. L'administration de la bétaine permet d'abaisser la concentration d'homocystéine dans le sang.

Dans la publication WO 95 / 157 50, L'auteur afin de prévenir les désordres vasculaires chez les patients homocystéinuriques propose l'usage dans ses ingrédients de la bétaine.

La publication WO 98 / 19690 s'intéresse également aux patients souffrant d'un taux d'homocystéine élevé dans le sang. L'usage de la bétaine entre autres ingrédients est destiné à réduire le taux d'homocystéine dans le sang, étant établi que l'homocystéine est un facteur positif de risque dans l'occurrence des maladies cardio-vasculaires, ainsi que dans la maladie d'Alzheimer.

La publication EPO 347 864 décrit l'usage de la bétaine parmi ses ingrédients afin de lutter contre l'augmentation dans le plasma humain des groupes sulfhydryls dus à la cystéine ainsi qu'à l'homocystéine, et ainsi inhiber la formation des plaques d'athérosclérose.

Cette activité anti-athérosclérosique est connue et largement documentée. Ces publications s'intéressent à l'activité de la bétaine sur le métabolisme des lipides (Zapadnyuk & al. Biol. Med. 1987) ainsi que sur celui du cholestérol (Panteleimonova & al . Farmakol. Toksikol , Moscow 1983).

La publication WO 97 38685 décrit l'utilisation de la bétaine et de la taurine afin de traiter les complications résultant de l'ischémie dans certains organes. L'ischémie est un arrêt localisé de la circulation sanguine et ne représente qu'une des pathologies dues à la thrombose.

La publication EPO 781 554 décrit dans ses exemples l'expérimentation sur des coeurs énucléés, c'est à dire des coeurs extraits et isolés du système vasculaire. L'utilisation de la bétaine pour ses propriétés osmoprotectrices et antiradicalaires connues permet ici aux auteurs de revendiquer son rôle protecteur du muscle cardiaque.

D'autres formes de bétaines ont été proposées (WO 97 / 06795) sans égaler à ce jour l'activité et les performances de la glycine bétaine.

Aucune de ces publications ne dévoile l'activité de la glycine bétaine vis à vis de la thrombose veineuse et/ou artérielle, ni son activité anti-agrégante et anticoagulante.

La glycine bétaine dans le cadre de la présente invention peut être utilisée pour diverses applications cliniques telles que :

- Thromboses coronariennes et thromboses veineuses
- Infarctus, angine de poitrine, anévrisme, embolie pulmonaire, phlébite
- Les embolies cérébrales
- les chocs post-traumatiques d'origine chirurgicale ou non.
- La prévention des accidents de microcirculation dans les cas suivants : hémophilie, chimiothérapie, âge, contraception orale par les oestrogènes, obésité, tabagisme, prothèse.
- La prévention des risques liés à l'administration des produits de contraste ioniques et non ioniques.

MATERIELETMETHODE

5

A/ Principe de la thrombose induite par laser.

(Seiffge D. et al., 1989 ; Weichter W. et al., 1983)

10 Dans ce modèle, la lésion de la paroi vasculaire est induite par un faisceau laser. Ce faisceau entraîne une lésion limitée de l'endothélium vasculaire (seulement 1 à 2 cellules sont détruites). La mise a nu du sous-endothélium, surface thrombogène, amène l'adhésion des plaquettes par l'intermédiaire de la glycoprotéine Ib. Cette adhésion des plaquettes est suivie par leur activation. Elles forment des pseudopodes et sécrètent le contenu de leurs granules. Cette activation entraîne l'apparition de la glycoprotéine IIb-IIIa nécessaire à l'agrégation des
15 plaquettes entre elles. Cette lésion est induite au niveau de la microcirculation mésentérique du rat. Elle est immédiatement suivie par la formation d'un thrombus (quelques secondes). Ce thrombus qui grossit rapidement, sous l'effet du flux sanguin, embolise avant de se former à nouveau.

20 Dans ce dispositif l'évaluation de l'effet de la glycine bêtaïne a été mené conjointement à l'étude de deux molécules pharmacologiquement actives utilisées comme référence: l'acide acétylsalicylique et l'héparine (de bas poids moléculaire). L'évaluation a également porté sur l'activité de la glycine bêtaïne par rapport aux effets prothrombotiques induits par les produits de contraste.

25

B/ Thrombose induite par stase.

Une laparotomie est effectuée pour dégager la veine cave inférieure sur laquelle on pratique une ligature à To, à To + 2h injection sous cutanée de la glycine bêtaïne, à To + 6h
30 prélèvement du caillot.

C/ Protocole expérimental.

Pour ces études on a utilisé des rats Wistar mâles. Leur poids est compris entre 200 et
35 250 grammes. Après une période de stabulation de 8 jours, les rats sont soumis à un jeûne de 12 heures. Ils sont ensuite anesthésiés, la glycine bêtaïne est administrée par voie sous cutanée et le mésentère (laser) ou la veine cave (stase) sont dégagés aux fins des expérimentations.

40

45

- 5 -

EXEMPLES:

5

Exemple 1 : Evaluation du nombre d'embolies et de la durée d'embolisation après altération vasculaire par les tirs lasers

	Nombre d'embolies	Durée d'embolisation (minutes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	5.33 ± 0.58	2 ± 0
Glycine bêtaïne 5mg/kg	2 ± 0	1 ± 0
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	1 ± 1	$0,33 \pm 0,58$
Héparine 2 mg/kg	$2,67 \pm 0,58$	1 ± 0

10

La glycine bêtaïne réduit d'une façon significative le nombre d'embolies et le temps d'embolisation après altération vasculaire par des tirs lasers. Ces résultats démontrent sa puissante activité anti-thrombotique.

15

Exemple 2 : Evaluation du temps d'hémorragie provoquée

(E. Dejana. Bleeding time in rats . Thrombosis. Rech. 1982)

20

	THP (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	101.52 ± 5.7
Glycine bêtaïne 5mg/kg	95 ± 5
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	$276,67 \pm 20,82$
Héparine 2 mg/kg	$313,33 \pm 20$

Les résultats montrent que la glycine bêtaïne maintient le temps d'hémorragie provoquée dans les valeurs du témoin négatif. La glycine bêtaïne en plus de son activité anti-thrombotique n'engendre pas de risques hémorragiques comparativement aux témoins positifs.

25

30

- 6 -

Exemple 3: Evaluation de l'agrégation plaquettaire après altération vasculaire par les tirs lasers

5 (Cardinal & Flower. Pharmacol. Method. 1980)

	Amplitude (Ohms)	Vélocité (Ohms/min)
Témoin négatif NaCl 0.9%	13 ± 1	9 ± 1
Glycine bêtaïne 5mg/kg	0.66 ± 1.15	1.66 ± 1.15
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	2,33 ± 2.08	2 ± 1
Héparine 2 mg/kg	4.33 ± 0.57	2.66 ± 0.50

Les résultats démontrent l'activité anti-agrégante de la glycine bêtaïne.

10

**Exemple 4 : Evaluation de l'effet de la vis à vis des cellules sanguines
a/ Dénombrement des plaquettes**

	Nombre de plaquettes (10^9)
Témoin négatif NaCl 0.9%	788 ± 30.14
Glycine bêtaïne 5mg/kg	804.67 ± 20.03
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	855.33 ± 63.17
Héparine 2 mg/kg	777.33 ± 6.43

15

b/ Dénombrement des globules blancs

	Nombre des globules blancs (10^9)
Témoin négatif NaCl 0.9%	5.03 ± 0.20
Glycine bêtaïne 5mg/kg	4.43 ± 0.32
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	4.33 ± 1.00
Héparine 2 mg/kg	5.80 ± 0.10

- 7 -

c/ Dénombrement des globules rouges

5

	Nombre des globules rouges (10^{12})
Témoin négatif NaCl 0.9%	6.56 ± 0.15
Glycine bétaine 5mg/kg	6.19 ± 0.25
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	6.15 ± 0.31
Héparine 2 mg/kg	6.20 ± 0.20

Le dénombrement des éléments figurés du sang reste dans les valeurs du témoin négatif et démontre l'innocuité de la glycine bétaine

10

Exemple 5 : Bilan biologique

a/ Temps de Quick

	TQ (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	17 ± 1
Glycine bétaine 5mg/kg	16.9 ± 1.05
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	18.33 ± 2.08
Héparine 2 mg/kg	29.50 ± 0.52

15

b/ Temps de céphaline activée (TCA)

	TCA (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	20.5 ± 0.5
Glycine bétaine 5mg/kg	39.9 ± 1.05
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	27.26 ± 1.1
Héparine 2 mg/kg	39.46 ± 1.36

c/ Dosage du fibrinogène

5

	Fibrinogène (g/l)
Témoin négatif NaCl 0.9%	2.45 ± 0.19
Glycine bétaine 5mg/kg	1.7 ± 0.1
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	2.19 ± 0.33
Héparine 2 mg/kg	2.13 ± 0.25

d/ Dosage de l'alpha.2-Antiplasmine (α 2AP)

10

	α 2AP (%)
Témoin négatif NaCl 0.9%	30.16 ± 0.85
Glycine bétaine 5mg/kg	29.7 ± 0.68
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	29.36 ± 0.92
Héparine 2 mg/kg	29.4 ± 1.01

e/ Dosage de l'Antithrombine III (AT III)

15

	ATIII (%)
Témoin négatif NaCl 0.9%	86 ± 3
Glycine bétaine 5mg/kg	89.5 ± 1.37
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	85.33 ± 3.51
Héparine 2 mg/kg	77.66 ± 1.52

Exemple 6: Evaluation de l'activité de la glycine bêtaïne en fonction du temps

5

Groupes expérimentaux : Le produit est testé à 5 mg/ kg
Thrombose induite par laser

10 **Contrôle** NaCl 0,9%
 Groupe I Le produit est injecté 1 heure avant l'expérimentation
 Groupe II Le produit est injecté 2 heures avant l'expérimentation
 Groupe III Le produit est injecté 24 heures avant l'expérimentation
 Groupe IV Le produit est injecté 48 heures avant l'expérimentation

15

a) Effet du produit testé (5 mg/ml/kg) sur le Temps d'Hémorragie Provoquée.

Groupes	T.H.P (secondes)
NaCl 0.9 %	110 ± 21,2
I	105 ± 26,2
II	145 ± 15,52
III	115,5 ± 14,2
IV	120 ± 10,13

20

b) Effet du produit testé (5 mg/ml/kg) sur la thrombose artérielle induite par faisceau laser

Groupes	Nombre de tirs	Nombre d'embolies	durée d'embolisation (minutes)
NaCl 0,9 %	2,5 ± 0,84	5,7 ± 1,5	2,1 ± 0,69
I	3,49 ± 1,07	1,8 ± 1,44	0,51 ± 0,5
II	3,0 ± 1,5	1,4 ± 1,18	0,3 ± 0,23
III	2,50 ± 1,25	1,99 ± 0,4	1,00 ± 0,5
IV	2,7 ± 1,0	2,2 ± 0,69	1,5 ± 0,6

- 10 -

c) Effet du produit testé (5 mg/kg) sur l'agrégation plaquettaire induite ex vivo.

Groupes	Amplitude (Ohms)	Vélocité (Ohms / minutes)
NaCl 0,9 %	24,23 ± 0,5	14,4 ± 2,3
I	11,33 ± 3,08	8,2 ± 0,2
II	13,2 ± 3,5	9,3 ± 1,8
III	12,7 ± 4,1	8,7 ± 1,3
IV	13 ± 2,8	8,7 ± 1,15

5

d) Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne sur les facteurs de coagulation après administration répétitive sur 5 jours de traitement.

	TCA (secondes)	Temps de Quick (secondes)	Fibrinogène g / l
Témoin non traité	21,25 ± 2,3	16,1 ± 1,0	3,03 ± 0,45
Glycine bêtaïne (5 mg / kg / j)	39,3 ± 2,3	19,8 ± 1,2	2,2 ± 0,1

10

Exemple 7 : Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne sur la thrombose veineuse induite par stase.

a) Effet de la glycine bêtaïne sur le poids du caillot

15

	Poids du caillot (mg)
Témoin non traité	4,033 ± 2
Glycine bêtaïne (1mg/kg)	3,1 ± 0,4
Glycine bêtaïne (2,5 mg/kg)	1,63 ± 0,76
Glycine bêtaïne (5mg/kg)	0,76 ± 0,4

- 11 -

b) Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne sur le plasminogène

	Plasminogène %
NaCl 0,9 %	$2,7 \pm 0,33$
Glycine bêtaïne (5 mg / kg)	$1,66 \pm 0,58$
Glycine bêtaïne (2,5 mg / kg)	$2 \pm 0,15$
Glycine bêtaïne (1 mg / kg)	$2,44 \pm 0,58$

5 c) Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne sur la coagulation

	TCA (secondes)	Temps de Quick (secondes)	Fibrinogène g / l
Témoin non traité	$30,2 \pm 2,7$	$16,1 \pm 1,0$	$3,03 \pm 0,45$
Glycine bêtaïne (1 mg/kg)	$29,1 \pm 2,3$	$16,2 \pm 1,2$	$2,63 \pm 0,3$
Glycine bêtaïne (2,5 mg/kg)	$31,2 \pm 2,6$	$16,6 \pm 0,7$	$2,2 \pm 0,17$
Glycine bêtaïne (5 mg/kg)	$33,5 \pm 1,9$	$15,6 \pm 0,4$	$2,32 \pm 0,33$

d) Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne sur les facteurs de coagulation

10

	Anti Xa unité / ml	Anti IIa unité / ml
Glycine bêtaïne (5 mg / kg)	$0,35 \pm 0,15$	—
Glycine bêtaïne (2,5 mg / kg)	$0,14 \pm 0,10$	—
Glycine bêtaïne (1 mg / kg)	$0,08 \pm 0,1$	—

- 12 -

Le traitement avec la glycine bêtaïne inhibe les complications thrombo-emboliques déclenchées par les tirs lasers. En effet, ce traitement avec la glycine bêtaïne, avant les tirs lasers diminue l'adhésion des plaquettes et leur agrégation au niveau vasculaire.

- 5 Le traitement avec la glycine bêtaïne inhibe les complications thrombo-emboliques. En effet, ce traitement avec la glycine bêtaïne, avant l'induction de la thrombose, a montré un haut potentiel antithrombotique au niveau de tous les paramètres entrant en jeu dans le processus de la formation du thrombus. De plus, les résultats des paramètres biologiques démontrent la parfaite innocuité de la glycine bêtaïne qui contrairement aux produits de référence utilisés (aspirine et héparine), n'induit aucun effet hémorragique ni d'effet secondaire indésirable. Ces caractéristiques confèrent à la glycine bêtaïne, en plus de son efficacité démontrée, la particularité de pouvoir être administrée aux personnes à risque hémorragique ainsi qu'aux personnes qui présenteraient des risques de sensibilité ou d'allergie face aux traitements antithrombotiques conventionnels (hémophiles, allergiques). La glycine bêtaïne ne provoquant de thrombopénies ou désordres hémorragiques (exemples 2 & 4). Le résultat expérimental de l'exemple 5, c, démontre une consommation du fibrinogène.

- 20 Il est à noter que, dans les mêmes conditions expérimentales, pour la conservation du sang la glycine bêtaïne est apparue comme possédant un haut pouvoir anti-coagulant comparativement à des tubes héparinés ou contenant de l'E.D.T.A. Les doses actives de glycine bêtaïne sont apparues entre 3 et 5 mg par tube à hémolyse. Ce résultat expérimental démontre un haut potentiel anticoagulant de la glycine bêtaïne. L'utilisation de la glycine bêtaïne comme anticoagulant peut être revendiquée, tant pour le traitement du corps humain in vivo, que pour la conservation du sang ex vivo.

25

Evaluation de l'activité de la glycine bêtaïne vis à vis des produits de contraste.

- 30 Dans le cadre de la recherche sur les effets anti-thrombotiques et dans le souci de compléter l'approche de l'efficacité de la glycine bêtaïne, nous avons évalué l'effet de la glycine bêtaïne sur l'augmentation des risques thrombo-emboliques liés à l'utilisation des produits de contraste connus pour leurs pouvoirs prothrombotiques. L'intérêt représenté par l'utilisation de ce modèle est qu'il permet l'observation directe de la formation du thrombus au site de la lésion vasculaire. Ces résultats expliquent l'apparition d'occlusions thrombotiques lors des angioplasties, surtout chez des patients, dont l'endothélium est déjà endommagé ou lésé. L'angioplastie coronaire cause une dénudation de l'endothélium, exposant le collagène, l'élastine et les cellules musculaires lisses au sang circulant, en analogie avec le modèle de thrombose expérimentale utilisé. Ainsi, l'apparition de nouveaux thrombi est plus élevée chez des patients présentant un infarctus du myocarde récent ou une plaque coronaire excentrique.

- 35 L'administration des produits de contraste, diminue le nombre de globules blancs, le nombre de globules rouges et le nombre de plaquettes. Les produits de contraste interagissent avec les leucocytes, induisent la libération de leukotriènes, augmentent la perméabilité vasculaire et exercent un effet chimiotactique. De plus, les produits de contraste agissent sur le contrôle de l'expression de la P-selectine et provoquent l'adhésion des globules blancs à l'endothélium vasculaire. Il a été démontré que l'utilisation des produits de contraste était associée avec l'apparition de thrombi d'importance variable en fonction du produit utilisé.

45

Deux produits de contrastes ont été étudiés : Hexabrix® (ionique) et Iopamidol ® (non ionique)

- 13 -

Exemple 8 : Evaluation du nombre d'embolies et de la durée d'embolisation après altération vasculaire par les tirs lasers et administration des produits de contrastes.

	Nombre d'embolies	Durée d'embolisation (minutes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	5.33 ± 0.58	2 ± 0
Hexabrix®	8 ± 1	3.67 ± 0.58
Iopamidol®	11.67 ± 0.50	6.33 ± 0.52
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	4 ± 1	2 ± 0
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	5.33 ± 0.58	2.33 ± 0.48

5

Exemple 9 : Evaluation du temps d'hémorragie provoquée (THP)

	THP (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	101.52 ± 5.7
Hexabrix®	195 ± 13.23
Iopamidol®	128 ± 7.64
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	150 ± 5
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	111 ± 6.60

10 **Exemple 10: Evaluation de l'agrégation plaquettaire après altération vasculaire par les tirs lasers**

	Amplitude (Ohms)	Velocité (Ohms/min)
Témoin négatif NaCl 0.9%	13 ± 1	9 ± 1
Hexabrix®	6 ± 1	5.66 ± 0.57
Iopamidol®	15 ± 2.64	12.33 ± 0.50
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	2 ± 1	5 ± 0
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	4.66 ± 0.52	9.33 ± 0.8

- 14 -

Exemple 11 : Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne vis à vis des cellules sanguines**a/ Dénombrement des plaquettes**

5

	Nombre plaquettes (10^9)
Témoin négatif NaCl 0.9%	788.33 \pm 30.14
Hexabrix®	620 \pm 10
Iopamidol®	585.67 \pm 23.54
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	669.67 \pm 7.37
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	704.33 \pm 92.33

b/ Dénombrement des globules blancs

	Nombre globules blancs (10^{12})
Témoin négatif NaCl 0.9%	5.03 \pm 0.20
Hexabrix®	2.96 \pm 0.21
Iopamidol®	3.06 \pm 0.35
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	4.20 \pm 0.1
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	3.9 \pm 0.3

10

c/ Dénombrement des globules rouges

	Nombre globules rouges (10^9)
Témoin négatif NaCl 0.9%	6.56 \pm 0.15
Hexabrix®	5.43 \pm 0.47
Iopamidol®	5.5 \pm 0.36
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	6.5 \pm 0.15
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	6.6 \pm 0.19

- 15 -

Exemple 12 : Bilan biologique**a/ Temps de Quick**

5

	TQ (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	17 ± 1
Hexabrix®	24.13 ± 1
Iopamidol®	28.1 ± 0.75
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	16.36 ± 0.56
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	17.83 ± 1.2

b/ Temps de céphaline activé (TCA)

	TCA (secondes)
Témoin négatif NaCl 0.9%	20.5 ± 0.5
Hexabrix®	49.3 ± 1.85
Iopamidol®	41.33 ± 0.8
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	25.4 ± 0.61
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	22.4 ± 0.7

10

c/ Dosage du fibrinogène

	Fibrinogène (g/l)
Témoin négatif NaCl 0.9%	2.45 ± 0.19
Hexabrix®	1.49 ± 0.18
Iopamidol®	1.5 ± 0.8
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®	1.7 ± 0.09
Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol®	1.9 ± 0.1

- 16 -

d/ Dosage de l'alpha.2-Antiplasmine (α 2AP)

	α 2AP (%)
Témoin négatif NaCl 0.9%	30.16 \pm 0.85
Hexabrix®	23.26 \pm 1.06
Iopamidol®	25.23 \pm 0.95
Glycine bétaine 5mg/kg + Hexabrix®	25.66 \pm 0.64
Glycine bétaine 5mg/kg + Iopamidol®	28.13 \pm 0.8

5

e/ Dosage de l'Antithrombine III (AT III)

	AT III (%)
Témoin négatif NaCl 0.9%	86.3 \pm 3
Hexabrix®	81.63 \pm 0.66
Iopamidol®	70.6 \pm 1.51
Glycine bétaine 5mg/kg + Hexabrix®	79.1 \pm 1.05
Glycine bétaine 5mg/kg + Iopamidol®	87.26 \pm 0.9

10

Le traitement avec la glycine bétaine inhibe les complications thrombo-emboliques associées à l'utilisation des produits de contraste. En effet, ce traitement avec la glycine bétaine, avant ou pendant l'injection des produits de contraste, diminue l'adhésion des plaquettes et leur agrégation au niveau vasculaire. Ces résultats démontrent l'effet anti-thrombotique et thrombolytique de la glycine bétaine. Il est à noter que les produits de contraste peuvent avoir d'autres effets secondaires tels que la stase sanguine au niveau des cathéters et les lésions endothéliales causées par les procédures d'administrations elles-mêmes. La glycine bétaine remédie à ces effets indésirables.

25

5 **CONCLUSION**

La glycine bétaine possède les mêmes, voire de meilleures, caractéristiques thérapeutiques que les anticoagulants et les anti-agrégants étudiés (acide acétylsalicylique et l'héparine), tout en ne présentant aucun effet indésirable.

10

Les performances supérieures en terme d'efficacité thérapeutique de la glycine bétaine par rapport à ces deux molécules (acide acétylsalicylique et héparine) incitent à la formulation d'un médicament ayant pour principe thérapeutiquement actif la glycine bétaine. Ce médicament étant destiné au traitement des thromboses et des affections thrombo-emboliques.

15

Selon les résultats exposés ce médicament revendique aussi les indications anticoagulant, anti-agrégant et fibrinolytique. L'innocuité démontrée de cette molécule permet d'envisager des traitements à long terme sans pour autant nécessiter une surveillance biologique.

20

L'intérêt de l'utilisation de la glycine bétaine réside dans le fait qu'elle agit à plusieurs niveaux de l'hémostase à savoir au niveau de l'agrégation plaquettaire, au niveau de la coagulation et au niveau fibrinolytique. Cette activité est durable et évite des administrations répétitives ce qui constitue une amélioration notable par rapport aux traitements existant.

25

L'administration de la bétaine n'induit aucun risque hémorragique, ni autres effets secondaires (ex : thrombopénie induite à l'héparine) ce qui constitue une avancée majeure en thérapeutique antithrombotique.

REVENDICATIONS

5

1. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les thromboses non induites par l'homocystinurie.
2. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les affections thrombo-emboliques non induites par l'homocystinurie.
- 10 3. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les désordres de la coagulation du sang chez un patient.
4. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les désordres de l'agrégation plaquettaire chez un patient.
- 5 5. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à lyser
15 un thrombus.
6. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à traiter les thromboses chez les sujets à risque hémorragique.
7. Utilisation de la glycine bêtaïne comme agent anticoagulant pour la conservation du sang ex-vivo.
- 20 8. Utilisation de la glycine bêtaïne pour l'obtention d'un médicament destiné à contrecarrer les effets thrombo-emboliques induits par les produits de contraste.
9. Utilisation de la glycine bêtaïne selon la revendication 8, caractérisée en ce qu'elle puisse être simultanément administrée avec des produits de contraste à un patient.
10. Utilisation de la glycine bêtaïne comme principe actif selon l'une quelconque des
25 revendications 1 à 9, caractérisée en ce qu'une quantité efficace de glycine bêtaïne est associée à un support, véhicule ou excipient pharmaceutiquement acceptable.

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/BE 00/00021

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/205

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 97 06795 A (KALVINSH IVARS ;VEVERIS MARIS (LV)) 27 February 1997 (1997-02-27) abstract page 5, last paragraph	1-4,7,10
Y	EP 0 781 554 A (TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD ;VALSTS ZINATNISKA IESTADE BEZP (LV)) 2 July 1997 (1997-07-02) abstract page 2, line 56 -page 3, line 13 page 4, line 13 - line 34; claims	1-4,7,10
A	WO 98 19690 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO) 14 May 1998 (1998-05-14) page 1, line 1 -page 2, line 26 page 5, line 7 - line 20 page 6, line 16 - line 19; claims 16-19 -/--	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 June 2000

Date of mailing of the international search report

19/06/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hoff, P

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Appl. No.
PCT/BE 00/00021

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 95 15750 A (HASHIM SAMI A) 15 June 1995 (1995-06-15) the whole document ---	1-10
A	WO 97 38685 A (HAEUSSINGER DIETER) 23 October 1997 (1997-10-23) abstract page 4, line 30 -page 8, line 6 page 12, line 27 -page 14, line 5; claims 1,8,9,11-13,15,18 ---	1-10
A	EP 0 347 864 A (STRYDOM ANDRIES JOHANNES CORNE) 27 December 1989 (1989-12-27) le document en entier, plus particulièrement page 3, ligne 10 and revendication 7 ---	1-10
A	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US ZAPADNYUK, V. I. ET AL: "Bile-secretory effect of trimethylglycine in normal and atherosclerotic animals of different ages" retrieved from STN Database accession no. 107:190742 HCA XP002123170 abstract & BYULL. EKSP. BIOL. MED. (1987), 104(7), 30-2, ---	1-10
A	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US PANTELEIMONOVA, T. N. ET AL: "Effect of trimethylglycine on lipid metabolism in rabbits with experimental atherosclerosis" retrieved from STN Database accession no. 99:99080 HCA XP002123171 abstract & FARMAKOL. TOKSIKOL. (MOSCOW) (1983), 46(4), 83-5, ---	1-10
A	FAZIO B ET AL: "Treatment of human atherosclerosis with betaine." MINERVA MED, (1961 APR 25) 52 1511-6., XP000853747 the whole document ---	1-10
A	P.H. LIST ET AL.: "HAGERS HANDBUCH DER PHARMAZEUTISCHEN PRAXIS" 1972, SPRINGER-VERLAG, BERLIN. HEIDELBERG. NEW YORK XP002123167 page 431 ---	1-10
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/BE 00/00021

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>"Betaine for homocystinuria." MEDICAL LETTER ON DRUGS AND THERAPEUTICS, (1997) 39/993 (12)., XP000853853 the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-10
A	<p>WILCKEN D E ET AL: "The natural history of vascular disease in homocystinuria and the effects of treatment." JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASE, (1997 JUN) 20 (2) 295-300., XP000853897 the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-10
A	<p>J.E.F. REYNOLDS: "MARTINDALE, The Extra Pharmacopoeia" 1996 , ROYAL PHARMACEUTICAL SOCIETY , LONDON XP002123168 "Betaine hydrochloride" page 1679</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-10
A	<p>"the merck index" 1996 , MERCK & CO , WHITEHOUSE STATION, NJ XP002123169 "Betaine" page 198</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-10

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Inter national Application No

PCT/BE 00/00021

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9706795 A	27-02-1997	LV 11727 A LV 11727 B	20-04-1997 20-08-1997
EP 0781554 A	02-07-1997	JP 10095731 A US 5965615 A WO 9704767 A	14-04-1998 12-10-1999 13-02-1997
WO 9819690 A	14-05-1998	AU 719290 B AU 5244298 A EP 0951293 A US 6008221 A	04-05-2000 29-05-1998 27-10-1999 28-12-1999
WO 9515750 A	15-06-1995	AU 1265295 A	27-06-1995
WO 9738685 A	23-10-1997	AU 2386097 A CA 2251071 A EP 0946167 A NO 984759 A US 5880098 A	07-11-1997 23-10-1997 06-10-1999 12-10-1998 09-03-1999
EP 0347864 A	27-12-1989	AU 2999192 A AU 3673789 A DK 313989 A JP 2067216 A MC 2041 A NO 892617 A NZ 229670 A ZA 8904797 A	04-02-1993 04-01-1990 25-12-1989 07-03-1990 30-05-1990 27-12-1989 28-07-1992 28-03-1990

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. : Internationale No

PCT/BE 00/00021

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K31/205

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 97 06795 A (KALVINSH IVARS ;VEVERIS MARIS (LV)) 27 février 1997 (1997-02-27) abrégé page 5, dernier alinéa	1-4,7,10
Y	EP 0 781 554 A (TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD ;VALSTS ZINATNISKA IESTADE BEZP (LV)) 2 juillet 1997 (1997-07-02) abrégé page 2, ligne 56 -page 3, ligne 13 page 4, ligne 13 - ligne 34; revendications	1-4,7,10
	-/-	



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cite pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

9 juin 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

19/06/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Hoff, P

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem Internationale No
PCT/BE 00/00021

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 98 19690 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO) 14 mai 1998 (1998-05-14) page 1, ligne 1 -page 2, ligne 26 page 5, ligne 7 - ligne 20 page 6, ligne 16 - ligne 19; revendications 16-19 ---	1-10
A	WO 95 15750 A (HASHIM SAMI A) 15 juin 1995 (1995-06-15) le document en entier ---	1-10
A	WO 97 38685 A (HAEUSSINGER DIETER) 23 octobre 1997 (1997-10-23) abrégé page 4, ligne 30 -page 8, ligne 6 page 12, ligne 27 -page 14, ligne 5; revendications 1,8,9,11-13,15,18 ---	1-10
A	EP 0 347 864 A (STRYDOM ANDRIES JOHANNES CORNE) 27 décembre 1989 (1989-12-27) le document en entier, plus particulièrement page 3, ligne 10 and revendication 7 ---	1-10
A	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US ZAPADNYUK, V. I. ET AL: "Bile-secretory effect of trimethylglycine in normal and atherosclerotic animals of different ages" retrieved from STN Database accession no. 107:190742 HCA XP002123170 abrégé & BYULL. EKSP. BIOL. MED. (1987), 104(7), 30-2, ---	1-10
A	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US PANTELEIMONOVA, T. N. ET AL: "Effect of trimethylglycine on lipid metabolism in rabbits with experimental atherosclerosis" retrieved from STN Database accession no. 99:99080 HCA XP002123171 abrégé & FARMAKOL. TOKSIKOL. (MOSCOW) (1983), 46(4), 83-5, ---	1-10
A	FAZIO B ET AL: "Treatment of human atherosclerosis with betaine." MINERVA MED, (1961 APR 25) 52 1511-6., XP000853747 le document en entier ---	1-10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dernière Internationale No
PCT/BE 00/00021

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	P.H. LIST ET AL.: "HAGERS HANDBUCH DER PHARMAZEUTISCHEN PRAXIS" 1972 , SPRINGER-VERLAG , BERLIN. HEIDELBERG. NEW YORK XP002123167 page 431 ----	1-10
A	"Betaine for homocystinuria." MEDICAL LETTER ON DRUGS AND THERAPEUTICS, (1997) 39/993 (12)., XP000853853 le document en entier ----	1-10
A	WILCKEN D E ET AL: "The natural history of vascular disease in homocystinuria and the effects of treatment." JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASE, (1997 JUN) 20 (2) 295-300., XP000853897 le document en entier ----	1-10
A	J.E.F. REYNOLDS: "MARTINDALE, The Extra Pharmacopoeia" 1996 , ROYAL PHARMACEUTICAL SOCIETY , LONDON XP002123168 "Betaine hydrochloride" page 1679 ----	1-10
A	"the merck index" 1996 , MERCK & CO , WHITEHOUSE STATION, NJ XP002123169 "Betaine" page 198 -----	1-10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Den 2 Internationale No

PCT/BE 00/00021

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9706795	A	27-02-1997	LV 11727 A	20-04-1997
			LV 11727 B	20-08-1997
EP 0781554	A	02-07-1997	JP 10095731 A	14-04-1998
			US 5965615 A	12-10-1999
			WO 9704767 A	13-02-1997
WO 9819690	A	14-05-1998	AU 719290 B	04-05-2000
			AU 5244298 A	29-05-1998
			EP 0951293 A	27-10-1999
			US 6008221 A	28-12-1999
WO 9515750	A	15-06-1995	AU 1265295 A	27-06-1995
WO 9738685	A	23-10-1997	AU 2386097 A	07-11-1997
			CA 2251071 A	23-10-1997
			EP 0946167 A	06-10-1999
			NO 984759 A	12-10-1998
			US 5880098 A	09-03-1999
EP 0347864	A	27-12-1989	AU 2999192 A	04-02-1993
			AU 3673789 A	04-01-1990
			DK 313989 A	25-12-1989
			JP 2067216 A	07-03-1990
			MC 2041 A	30-05-1990
			NO 892617 A	27-12-1989
			NZ 229670 A	28-07-1992
			ZA 8904797 A	28-03-1990

